DOI: 10.20103/j.stxb.202205311536

圣倩倩,季亚欧,宋敏,祝遵凌.¹⁵NO₂胁迫下三角梅不同器官的氮素吸收分配动态及代谢规律.生态学报,2023,43(19):7998-8010. Sheng Q Q, Ji Y O, Song M, Zhu Z L.Dynamics and metabolism of nitrogen absorption and distribution in different organs of *Bougainvillea spectabilis* under ¹⁵NO₂ stress.Acta Ecologica Sinica,2023,43(19):7998-8010.

¹⁵ NO₂ 胁迫下三角梅不同器官的氮素吸收分配动态及 代谢规律

圣倩倩^{1,2},季亚欧^{1,2},宋 敏^{1,2},祝遵凌^{1,2,3,*}

1南京林业大学风景园林学院,南京 210037

2 南京林业大学南方现代林业协同创新中心,南京 210037

3 南京林业大学艺术设计学院,南京 210037

摘要:近年来研究园林植物消减大气污染物的修复技术及其原理,理清氮氧化物污染对植物生理生态的影响机制,对城市生态 环境保护和文明建设具有重要意义。以三角梅(Bougainvillea spectabilis Willd)小苗为研究材料,通过人工模拟熏气法,设计短时 间高浓度¹⁵N02胁迫处理,以CK为对照,比较 8.0 μL/L¹⁵NO2处理和 4.0 μL/L¹⁵NO2处理对三角梅各器官¹⁵N的吸收量和各器官 ¹⁵N-氨基酸含量的影响,探究¹⁵NO2胁迫下三角梅各器官内氮素的吸收分配动态及代谢规律研究。结果表明,¹⁵NO2胁迫后显著 提高了三角梅各器官¹⁵N含量,其中叶片是¹⁵N的主要积累器官。8.0 μL/L¹⁵NO2处理下三角梅各器官¹⁵N含量、¹⁵N-硝态氮含量较 4.0 μL/L¹⁵NO2和 0 μL/L¹⁵NO2均极显著上升,¹⁵N-铵态氮含量较 4.0 μL/L¹⁵NO2除在叶中极显著下降了 54.0%外,其余均极显 著上升;¹⁵N含量在三角梅各器官中分配差异显著,4.0 μL/L¹⁵NO2处理下总体趋势为叶>根>茎。随着¹⁵NO2浓度不断上升,4.0 μL/L¹⁵NO2处理下三角梅各器官中¹⁵N-氨基酸含量均呈上升趋势,分配率均表现为叶>根>茎;8.0 μL/L¹⁵NO2处理下各器官中 ¹⁵N-氨基酸含量则未呈现统一的变化趋势,与 4.0 μL/L¹⁵NO2相比,各器官中部分¹⁵N-氨基酸含量呈下降趋势。因此,不同浓度 ¹⁵NO2胁迫后,三角梅各器官对¹⁵N的吸收量和各器官¹⁵N-氨基酸合成量变化不一,4.0 μL/L¹⁵NO2胁迫对植物的¹⁵N的吸收量和 各器官¹⁵N-氨基酸含量均呈现为上升趋势,叶片为¹⁵N和¹⁵N-氨基酸积累的主要器官;8.0 μL/L¹⁵NO2胁迫抑制植物根系的¹⁵N分 配,促进叶和茎的¹⁵N分配,叶片为¹⁵N积累的主要器官。该研究结果为氮氧化物污染在植物体内的迁移转化规律提供一定的理 论依据。

关键词:¹⁵N示踪法;¹⁵NO₂胁迫;不同器官;氮素;氨基酸

Dynamics and metabolism of nitrogen absorption and distribution in different organs of *Bougainvillea spectabilis* under ¹⁵NO₂ stress

SHENG Qianqian^{1,2}, JI Ya'ou^{1,2}, SONG Min^{1,2}, ZHU Zunling^{1,2,3,*}

1 College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

2 Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

3 College of Art and Design, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: In recent years, it is of great significance for urban ecological environment protection and civilization construction to study the remediation technology and principle of garden plants to reduce air pollutants and clarify the effect mechanism of nitrogen oxide pollution on plant physiology and ecology. In this paper, *Bougainvillea spectabilis* Willd seedlings were

基金项目:江苏省自然科学青年基金(BK20210613);江苏省社会科学基金项目研究成果(21GLC002);国家自然科学青年科学基金项目 (32101582);江苏省高等学校自然科学研究面上项目(21KJB220008)

收稿日期:2022-05-31; 网络出版日期:2023-05-15

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: zhuzunling@ njfu.edu.cn

http://www.ecologica.cn

taken as the research object. We designed a short time high concentration of ¹⁵NO, stress treatment by artificial fumigation. Taking CK as control, the effects of 8.0 µL/L ¹⁵NO₂ treatment and 4.0 µL/L ¹⁵NO₂ treatment on ¹⁵N uptake and ¹⁵N-amino acid content in various organs of B. spectabilis were compared in order to summarize the dynamics and metabolism of nitrogen absorption and distribution in various organs of B. spectabilis under $^{15}NO_2$ stress. The results showed that $^{15}NO_2$ stress significantly increased the ¹⁵N-nitrogen content in all organs of *B. spectabilis*, and the leaf was the main accumulation organ of ¹⁵N-nitrogen. Compared with 4.0 μ L/L and 0 μ L/L. The contents of ¹⁵N and ¹⁵N-nitrate nitrogen in organs were significantly increased under 8.0 µL/L treatment. Compared with 4.0 µL/L ¹⁵NO₂ treatment, the contents of ¹⁵N-ammonium nitrogen were significantly increased except its content in leaves was significantly decreased by 54.0%. The distribution of nitrogen in different organs of B. spectabilis was significantly different, and the general trend was leaf>root>stems under 4.0 µL/L ¹⁵NO₂ treatment. With the increasing concentration of ¹⁵NO₂, the contents of ¹⁵N-amino acids in all organs of B. spectabilis under 4.0 µL/L ¹⁵NO₂ treatment showed an increasing trend, and the distribution rate was leaf>root>stems. Under the treatment of 8.0 µL/L, the contents of ¹⁵N-amino acids in all organs did not show a uniform trend of change, and the contents of some ¹⁵N-amino acids in all organs showed a downward trend compared with that of 4.0 μ L/L. Therefore, after different concentrations of ¹⁵NO₂ stress, the absorption of ¹⁵N and the synthesis of ¹⁵N-amino acid in each organ of B. spectabilis varied. The absorption of ¹⁵N and the content of ¹⁵N-amino acid in each organ of *B. spectabilis* under 4.0 µL/L $^{15}\mathrm{NO}_2$ stress showed an upward trend, and leaves were the main organs of $^{15}\mathrm{N}$ and $^{15}\mathrm{N}$ -amino acid accumulation. 8.0 $\mu\mathrm{L/L}$ ¹⁵NO₂ stress inhibited¹⁵N allocation in roots and promoted ¹⁵N allocation in leaves and stems, with leaves being the main organ for ¹⁵N accumulation. These results provide a theoretical basis for the migraton and transformation of nitrogen oxide pollution in plants.

Key Words: ¹⁵N tracer; the stress of ¹⁵NO₂; different organs; nitrogen; amino acids

机动车尾气污染是国内外众多城市首要的空气污染来源,其中主要以氮氧化物(NO_x)为主,污染分担率 达 39%—79%,且呈逐年上升趋势,目前已成为人类呼吸道疾病等多类型疾病的主要环境影响因素,特别是城 市道路两侧,水平距离 50 m 以内和高度 1.7 m 以下范围内的大气所受污染最为严重^[1-4]。研究表明,城市空 气中约 2/3 的 NO_x来自于交通氮污染物,主要包括一氧化氮(NO)、二氧化氮(NO₂)、三氧化二氮(N₂O₃)、四 氧化二氮(N₂O₄)和五氧化二氮(N₂O₅)等,除 NO₂外,其他 NO_x极不稳定,遇光、遇湿、遇热后会迅速转化为 NO₂,NO₂毒性很大,极易造成人群的受害,威胁人类健康^[5]。最新研究表明,人体长期暴露于 1 µg/m³ NO₂环 境中,新型冠状病毒的发病率同比增加 5.58%;有学者据此提出"双重打击假说"("double-hit" hypothesis), 认为第一次打击来自于长期暴露于 PM_{2.5}环境中导致新冠病毒的主要受体肺泡 ACE-2 基因过表达,第二次打 击来自于高浓度 NO₂环境,ACE-2 再次过表达后,新冠病毒易产生,导致肺部出现严重衰竭^[6-7]。因此,降低 空气 NO₂浓度成为一种亟需解决的社会问题,而园林植物对交通污染物起到吸收、阻滞和过滤等作用,在改善 城市生态环境、组织道路交通、美化城市景观等方面发挥着重要作用,对人类亚健康问题起着康养疗愈的功 能,而植物对 NO₂吸收的量化效应至今尚无统一定论^[8]。

植物吸收空气中的 NO₂,实际是空气中的 NO₂以干沉降和湿沉降的方式迁移到植物体内^[9]。干沉降是空 气中 NO₂沉降的主要形式,空气中的 NO₂以气态形式通过气孔扩散和角质层渗透两种沉降途径进入植物体, 其中气孔扩散是主要干沉降途径^[9]。气孔导度与环境因子密切相关,如温度、湿度、光照等气候因子对 NO₂交 换有很强的调节作用,而交通氮污染物对气孔导度的调节主要通过光合作用,影响光合作用的原因一方面是 植物个体的差异性,另一方面受到气候因子影响显著^[10]。湿沉降是 NO₂通过降雨、降雪的方式从空气中迁移 到植物叶片中^[11]。有的学者认为 NO₂通过湿沉降到叶片表面后有两个去向,一是 NO₂溶解在水膜中形成硝 酸根(NO₃)并转运到细胞内,进而运往植物体各个部分;二是 NO₂溶解在水膜中并渗透到细胞之后,重新扩散 到大气中,也有一些学者,认为短时间 NO₂胁迫后,NO₂溶解在气孔下腔的细胞溶液中后最终会形成硝酸盐、 亚硝酸盐和质子,其中涉及的相关酶有硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸合成酶和谷氨酸 脱氢酶等^[12-13]。可见,关于 NO₂沉降到植物叶片后的代谢路径和规律,学者们至今还存在异议,研究结果还 没有统一,还需要进一步研究。

稳定性核素¹⁵N示踪作为一种有效手段在氮素研究中得到较多的应用。植物体内的氮素与植物的抗逆性密切相关,植物在遭受逆境胁迫的过程中,会进行氮素的自我调节以维持稳定的氮素代谢,这对植物的生长发育起着重要作用^[14]。研究发现,当植物受到¹⁵NO₂胁迫的时候,¹⁵NO₂首先通过植物气孔进入叶片,再快速溶于细胞间的水,形成¹⁵NO₃,接着诱导 NR 活性,并在 NR 的作用下被还原为¹⁵NO₂,之后又进一步被 NiR 还原成¹⁵NH₄,用于植物体内氨基酸和蛋白质的合成,从而影响着植物的生长与发育^[15]。如,Morikawa 等^[16]采用¹⁵N标记的 NO₂对 217 个植物类群进行熏气处理,发现不同植物叶片中 NO₂ 的含量差异高达 657 倍。而当 NO₂参与植物氮代谢后,不仅影响植物的生长,体内的谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶活性、叶绿素含量和光合作用等理化指标也发生明显的变化^[17-18]。而¹⁵NO₂进入到植物体内后,如何在植物体内迁移转化,在不同营养器官内如何分配,目前仅见于有关柑橘树、油棕、欧美杨等树木的氮素吸收和分配研究上,而基于同位素示踪法研究¹⁵NO₂胁迫下三角梅各器官内¹⁵N-氮素的迁移转化规律未见报道^[12-13]。通过¹⁵N示踪法研究¹⁵NO₂胁迫下三角梅各器官内¹⁵N含量及¹⁵N-氨基酸含量变化,对揭示三角梅的逆境氮素生理代谢活动具有重要的理论价值。

三角梅(Bougainvillea spectabilis),常绿藤本灌木,生长于热带城市,已被我国多个城市列为市花。由于其适应性强,花期长而美,近年来被广泛应用于城市园林绿化和庭院栽植。本文以二年生三角梅为研究材料,对其进行短时间高浓度¹⁵NO₂人工模拟熏气试验,通过¹⁵N同位素示踪法研究 NO₂胁迫下三角梅各器官中不同形态氮素中¹⁵N含量及相关氨基酸含量和¹⁵N丰度的变化,旨在追踪¹⁵NO₂胁迫后在三角梅体内的运输和转化的规律,解析氮素在植物体内各个器官的分配机制,为更好地促进三角梅发挥植物的氮素分配机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验装置

为满足实验需要,本课题团队自主设计并发明了一种可以远程实时监测气体浓度的¹⁵NO₂熏气装置(图1),包括气体发生模块、气体浓度检测模块、云平台数据处理中心、气体电磁阀控制器和熏气室^[19]。熏气





Fig.1 Working flow chart of NO₂ fumigation experimental device

1:Ala 丙氨酸;2:Gly 甘氨酸;3:Val 缬氨酸;4:Leu 亮氨酸;5:lle 异亮氨酸;6:Pro 脯氨酸;7:Asp 天冬氨酸;8:Met 蛋氨酸;9:Glu 谷氨酸;10: Phe 苯丙氨酸;11:Lys 赖氨酸;12:Tyr 酪氨酸 室为120 cm×120 cm×80 cm的长方体,可以实时且精准的控制¹⁵NO₂浓度,并通过手机小程序或 pad 客户端实时查看¹⁵NO₂浓度的变化以此监测¹⁵NO₂动态变化规律。本研究的¹⁵NO₂胁迫浓度处理通过定量的储气瓶经由微量质量流量计(Alicat, USA)定时定量输入,实测值为熏气室内通过云平台数据处理中心实际监测到的值,具有一些微小的波动,系统根据熏气室¹⁵NO₂变化,及时补充¹⁵NO₂,以维持¹⁵NO₂胁迫浓度的一致性。

1.2 试验材料

试验于 2020 年 4—8 月在江苏省南京市南京林业大学园林实验中心进行。以二年生三角梅 (Bougainvillea spectabilis Willd)小苗作为试验材料。将园土、草木灰、蛭石和珍珠岩(体积比 1:1:1:1)充分混 匀,装入直径 20 cm、高 25 cm 的花盆中。三角梅小苗培育期间,每周浇水 2—3 次,每两周补充 0.5 L 的霍格兰 营养液,以促进植物正常生长,具体培养环境条件见表 1。培养两个月后,将幼苗放置于空白熏气装置中继续 进行适应性培养,两周后选择健康、长势一致的幼苗进行¹⁵NO₂熏气试验。供试¹⁵NO₂气体来自于上海耐澄生 物科技有限公司,气体纯度为 99%。

		衣I 二用恒初	田的坦肖师说亲什	
	Table 1	Cultivation environmental condition	ons of Bougainvillea spectabilis Wil	ld seedlings
温度/℃ Temperature		空气相对湿度/% Relative humidity of air	光照度/klux Illumination	大气压/kPa Atmospheric pressure
25—28		60—70	26—29	99.3—99.5

表1 三角梅幼苗的培育环境条件

1.3 试验方法

依托课题团队前期的研究成果^[20-22],结合所查阅的其他参考文献^[23-24],设计短时间高浓度熏气试验。 共设置 3 种¹⁵NO₂体积分数的熏气处理(分别为 0 µL/L、4 µL/L、8 µL/L,记作 CK、T1(低浓度)、T2(高浓 度)),每种处理设置 3 个重复,每个重复熏气三角梅 20 株,即每种处理共 60 株植物(表 2)。从早上 9 点到下 午 5 点,连续熏气 8 h 后(时间过长,¹⁵NO₂会在植物体内分解,影响急性胁迫下¹⁵NO₂的同位素丰度和氨基酸 含量测定的精度),打开熏气室,进行相关指标检测的采样,样品主要分为三角梅的根、茎、叶,各器官洗净并 分离后,分开保存于零下 80℃冰箱,备用。

	Table 2 Treatment of test materials		
胁迫浓度/(µL/L) Stress concentration	单次处理苗木株数/株 Number of seedlings in one treatment	重复/次 Repeat	合计 Total
0(CK)	20	3	60
4(T1)	20	3	60
8(T2)	20	3	60

表 2 试验材料处理

CK:对照组 Control Check;T1:处理组 1 Treatment group 1;T2:处理组 2 Treatment group 2

1.4 指标测定方法^[25-31]

1.4.1 全氮测定

将测试样品放置于 60℃烘箱中烘干,用研磨仪磨碎过筛,干燥后称取 0.5 g,用浓硫酸混合催化剂消化,通 过元素分析同位素质谱联用仪(Vario EL III-Isoprime,德国)测定¹⁵N含量,使用 FOSS 凯氏全自动定氮仪测定 全氮含量。

氮素相关指标参照王春辉等^[26-27]的方法计算,具体计算如下:

全氮含量测定:用 K1100 全自动凯氏定氮仪测定;

¹⁵N含量=(¹⁵N全氮丰度-0.3663)×N%;

植株¹⁵N分配率(%)=(各器官¹⁵N含量/¹⁵N总含量)×100。

1.4.2 氮素代谢物含量测定

(1) 硝态氮、铵态氮含量测定

熏气后,称取三角梅植株的鲜样样品 0.5g放入研钵中,加入1mL 30%三氯乙酸(用以抑制硝酸还原酶活性)和少量石英砂(约0.5g)研磨至匀浆,并倒入10mL离心管中,使用9mL去离子水,分数次冲洗研钵,保证匀浆充分转移至离心管中,并及时放入离心机中,转速调至4000r/min,离心时间为10min,离心后,吸取上清液5mL,定容至100mL,用连续流动分析仪测定硝态氮与铵态氮的含量。样品浸取测定重复次数为2次。

(2) 硝态氮¹⁵N同位素值测定

采用反硝化细菌法测定硝态氮¹⁵N同位素值,具体的试验步骤如 Weigand 等人的研究^[28]。方法中选取的 反硝化细菌菌株是氯仿假单胞菌(Pseudom onas choreographies)(ATCC ② 43928[™],马纳萨斯,弗吉尼亚州,美 国)。

计算公式:

¹⁵N-硝态氮含量=(¹⁵N-硝态氮丰度-0.3663)×硝态氮浓度;

植株¹⁵N-硝态氮分配率(%)=(各器官¹⁵N-硝态氮含量/¹⁵N-硝态氮总含量)×100。

(3) 铵态氮¹⁵N丰度测定

采用 N₂O 法测定样品铵态氮¹⁵N丰度。分别吸取 5 mL 的标品和样品(NH⁴ 浓度为 20—60 µmol/L)于 20 mL顶空瓶中,将滤膜包(内含 40 µmol H₂SO₄的玻璃纤维滤膜)置于顶空进样瓶中,加入一定量 MgO,密封 并置于 37℃的 90 r/min 摇床上培养 8—10 d。培养结束后,取出滤膜包中的玻璃纤维滤膜,用 5 mL 去离子水 重新浸提 1 h,分别吸取 4 mL 标品和样品于新的顶空瓶中,加入 0.3 mL 的碱性次溴酸盐氧化剂,反应 30—40 min,再加入一定量的亚砷酸钠和 6 mol/L 盐酸,密封后,注入 0.5 mL 盐酸羟胺工作液,置于 37℃、120 rpm 的摇床培养 16 h。培养结束后,加入 0.5 mL 5 mol/L NaOH 终止反应。采用稳定同位素质谱仪(Thermo253 plus,美国)连接气体预浓缩装置(PreCon-IRMS)测定¹⁵N丰度。

计算公式:

¹⁵N atom%=(样品峰面积×¹⁵N atom%-样品空白峰面积×¹⁵N atom%空白)/(样品峰面积-空白峰面积)

¹⁵N-铵态氮含量=(¹⁵N-铵态氮丰度-0.3663)×铵态氮浓度

植株¹⁵N-铵态氮分配率(%)=(各器官¹⁵N-铵态氮含量/¹⁵N-铵态氮总含量)×100

1.4.3 ¹⁵N-氨基酸含量测定

以氯甲酸乙酯为衍生化试剂,使用气相色谱-燃烧-同位素比值质谱法测定氨基酸氮稳定同位素比值^[29-31]。稳定同位素比值采用 ISODAT 3.0 软件(美国赛默飞世尔公司),元素分析-同位素比值质谱仪数据处理采用 Ion Vantage 1.1 软件(德国艾力蒙塔公司)。

计算公式:

$$\delta^{15} \mathrm{N}_{\mathrm{Air}}(\%) = \left(\frac{R_{\mathrm{sample}}}{R_{\mathrm{reference}}} - 1\right) \times 1000$$

¹⁵N-氨基酸含量=(¹⁵N-氨基酸丰度-0.3663)×氨基酸浓度

植株¹⁵N-氨基酸分配率(%)=(各器官¹⁵N-氨基酸含量/¹⁵N-氨基酸总含量)×100 式中, R_{sample} 为待测样品的¹⁵N/¹⁴N的丰度比, $R_{reference}$ 为国际标准物质,即空气的¹⁵N/¹⁴N的丰度比。 **1.5** 数据分析

试验数据使用 Microsoft Office Excel 2019 处理并分析,绘制指标变化图;采用 SPSS 26.0 数据统计软件进行单因素方差分析和 Duncan 多重比较方法;图片采用 Adobe Photoshop CS6 软件进行编辑和排版。

2 结果与分析

2.1 ¹⁵NO₂胁迫下不同器官¹⁵N含量和分配率比较

如表 3 所示,随着 ¹⁵NO₂浓度升高,不同处理下的三角梅各器官¹⁵N含量和¹⁵N分配率的变化趋势不一,T1 组的三角梅各器官¹⁵N含量和¹⁵N分配率按根、茎和叶的次序整体呈"下降—上升"趋势,而T2 组呈上升趋势。

在三角梅各器官¹⁵N含量的变化中,T2组较CK组呈极显著上升;T2组较T1组在不同器官中均呈现极显著上升,按根、茎、叶顺序上升幅度分别达112.6%、363.4%、238.7%。在三角梅各器官¹⁵N分配率的变化中,T1组和T2组在整个NO₂胁迫过程中相较CK组呈现极显著上升;T2组相较T1组在根中极显著下降37.2%,在茎和叶中均无显著性差异。各器官不同浓度¹⁵NO₂的处理组间¹⁵N含量和¹⁵N分配率也存在极显著差异(P=0.0001<0.01)。

	Table 3 Comparison of ¹⁵ N cont	Comparison of ¹⁵ N content and distribution rate in different organs		
器官 Organ	胁迫浓度/(μL/L) Stress concentration	¹⁵ N含量/(mg/g) ¹⁵ N content	¹⁵ N分配率/% ¹⁵ N allocation rate	
	0(CK)	0.0000Bc	0.0000Bc	
根 Root	4(T1)	$0.0110{\pm}0.0009\mathrm{ABb}$	2.2004±0.1234Aa	
	8(T2)	0.0234±0.0045Aa	1.3827 ± 0.3419 Ab	
	0(CK)	0.0000Bb	0.0000Bb	
茎 Stem	4(T1)	$0.0094 \pm 0.0003 Bb$	1.8679 ± 0.1868 Aa	
	8(T2)	0.0434±0.0053Aa	2.5591±0.4497Aa	
	0(CK)	0.0000Cc	0.0000Bb	
叶 Leaf	4(T1)	$0.4809 \pm 0.0647 Bb$	95.9317±0.3101Aa	
	8(T2)	1.6288±0.0976Aa	96.0582±0.7915Aa	

表 3 不同器官¹⁵N含量和分配率比较

小写字母表示不同处理之间在 0.05 水平存在显著性差异,大写字母表示不同处理之间在 0.01 水平存在显著性差异;CK 代表 0.0 μL/L,T1 代表 4.0 μL/L,T2 代表 8.0 μL/L

2.2 ¹⁵NO₂胁迫下不同器官¹⁵N-硝态氮含量和分配率比较

如表 4 所示,随着 ¹⁵NO₂浓度升高,不同处理下的三角梅各器官¹⁵N-硝态氮含量和¹⁵N-硝态氮分配率的变 化趋势较为一致,在不同器官中,从 CK-T1-T2 呈现逐渐增加的趋势,其中尤以叶中的 T2 组的¹⁵N-硝态氮含量 最高,高达 1.1283 mg/g,根和茎器官中的不同 ¹⁵NO₂浓度处理的¹⁵N-硝态氮含量差异不显著。而对于不同 ¹⁵NO₂浓度处理组,¹⁵N-硝态氮含量和¹⁵N-硝态氮分配率按根、茎和叶次序均呈"下降—上升"的趋势。在三角 梅各器官¹⁵N-硝态氮含量的变化中,T2 组较 CK 组均呈极显著上升;T2 组较 T1 组均呈极显著上升趋势,按根、 茎、叶次序上升幅度达 79.5%、121.9%、1385.6%。在三角梅各器官¹⁵N-硝态氮分配率的变化中,T1 组较 CK 组 均呈现极显著上升;T2 组相较 T1 组在叶中呈极显著上升 82.1%,在根、茎中极显著下降 78.0%、72.8%。

表 4 不同器官 ¹⁵ N-硝态氮含量和分配率比较					
	Table 4 Comparison of ¹⁵ N-nitrate nitrogen content and distribution rate in different organs				
器官	胁迫浓度/(μL/L)	¹⁵ N-硝态氮含量/(mg/g)	¹⁵ N-硝态氮分配率/%		
Organ	Stress concentration	¹³ N-nitrate nitrogen content	¹³ N-nitrate nitrogen allocation rate		
	0(CK)	0.0000Cc	0.0000Bb		
根 Root	4(T1)	$0.0457{\pm}0.0008{\rm Bb}$	28.8450±4.6209Aa		
	8(T2)	0.0820 ± 0.0105 Aa	$6.3478 \pm 0.7860 Bb$		
	0(CK)	0.0000Cc	0.0000Cc		
茎 Stem	4(T1)	$0.0367{\pm}0.0054{\rm Bb}$	23.1947±0.3249Aa		
	8(T2)	0.0815±0.0021Aa	$6.3100 \pm 1.9563 Bb$		
	0(CK)	0.0000Bb	0.0000Cc		
叶 Leaf	4(T1)	$0.0759 {\pm} 0.0165 {\rm Bb}$	$47.9603 \pm 4.2959 Bb$		
	8(T2)	1.1283±0.2873Aa	87.3422±2.7423Aa		

小写字母表示不同处理之间在 0.05 水平存在显著性差异,大写字母表示不同处理之间在 0.01 水平存在显著性差异;CK 代表 0.0 μL/L,T1 代表 4.0 μL/L,T2 代表 8.0 μL/L

2.3 ¹⁵NO,胁迫下不同器官¹⁵N-铵态氮含量和分配率比较

如表5所示,随着¹⁵NO,浓度升高,不同处理下的三角梅各器官¹⁵N-铵态氮含量和¹⁵N-铵态氮分配率均呈 "下降—上升"的趋势。三角梅各器官¹⁵N-铵态氮含量的变化呈现极显著差异,根器官中无显著性差异,茎和 叶器官中,T2组相较CK组和T1组差异显著,其中在茎器官中,15N-铵态氮含量从CK-T1-T2呈现逐渐增加的 趋势,而在叶器官中,T1组的¹⁵N-铵态氮含量最高,为0.0882 mg/g。而三角梅各器官¹⁵N-铵态氮分配率的变化 差异极显著,在根和茎器官中,从 CK-T1-T2 呈现逐渐增加的趋势,而在叶器官中,T1 组相较 T2 组的¹⁵N-铵态 氮分配率显著提高,高达96.3413%,可见,¹⁵NO,胁迫对叶中的铵态氮分配率影响极显著。

	Table 5 Comparison of "N- ammonium nitrogen content and distribution rate in different organs					
器官 Organ	胁迫浓度/(μL/L) Stress concentration	实测值/(μL/L) Measured value	¹⁵ N-铵态氮含量/(mg/g) ¹⁵ N-ammonium nitrogen content	¹⁵ N-铵态氮分配率/% ¹⁵ N-ammonium nitrogen allocation rate		
	0(CK)	0 ± 0.00	0.0000Aa	0.0000Aa		
根 Root	4(T1)	4±0.03	0.0022 ± 0.0006 Aa	2.3764±0.2099Aa		
	8(T2)	8±0.05	0.0524 ± 0.0298 Aa	48.5117±20.8887Aa		
	0(CK)	0 ± 0.00	0.0000Ab	0.0000ВЬ		
茎 Stem	4(T1)	4±0.03	$0.0012{\pm}0.0004{\rm Ab}$	$1.2823 \pm 0.1739 Bb$		
	8(T2)	8±0.05	0.0150±0.0059Aa	13.9188±3.1186Aa		
	0(CK)	0 ± 0.00	0.0000Bb	0.0000ВЬ		
叶 Leaf	4(T1)	4 ± 0.03	$0.0882 \pm 0.0164 Aa$	96.3413±0.3838Aa		
	8(T2)	8±0.05	$0.0406{\pm}0.0147\mathrm{ABb}$	$37.5694 \pm 24.0072 \text{ABb}$		

表 5	不同器官	°N-铵态氮含量	量和分配率比较
-----	------	----------	---------

2.4 ¹⁵NO,胁迫下不同器官¹⁵N-氨基酸含量和分配率比较

本试验测定了三角梅根、茎和叶等营养器官12种氨基酸单标的出峰时间,如图2所示,12种氨基酸衍生 后都能很好分离,互不干扰。通过 GC-MS 测定了氨基酸混合标准溶液,以氨基酸含量为横坐标(X),以样品 与内标峰面积之比为纵坐标(Y),得到了12种氨基酸线性或非线性回归方程,如表6所示,相关系数R²在 0.9915—1之间,拟合程度较好。



图 2 三角梅各器官内氨基酸色谱图



1. Ala;丙氨酸 Alanine;2. Gly;甘氨酸 Glycine;3. Val;缬氨酸 Valine;4. Leu;亮氨酸 Leucine;5. Ile;异亮氨酸 Isoleucine;6. Pro:脯氨酸 Proline; 7. Asp:天冬氨酸 Aspartic acid; 8. Met:蛋氨酸 Methionine; 9. Glu:谷氨酸 Glutamic acid; 10. Phe:苯丙氨酸 Phenylalanine; 11. Lys:赖氨酸 Lysine;12. Tyr: 酪氨酸 Tyrosine

	Table 6 Regre	ssion equa	tion of amino acid derivat	ives	
类型 Type	回归方程 Regression models	R^2	类型 Type	回归方程 Regression models	R^2
丙氨酸 Alanine	y = 25.483x + 0.0662	0.9997	天冬氨酸 Aspartic acid	y = 16.534x - 0.1482	0.9951
甘氨酸 Glycine	y = 16.402x + 0.0289	0.9997	蛋氨酸 Methionine	y = 5.3857x - 0.0156	0.9938
缬氨酸 Valine	y = 9.2666x + 0.17	0.9915	谷氨酸 Glutamic acid	y = 0.0711x - 0.0004	0.9953
亮氨酸 Leucine	y = 13.704x + 0.0998	0.9999	苯丙氨酸 Phenylalanine	$y = 2.7885x^2 + 0.934x + 0.0204$	1
异亮氨酸 Isoleucine	$y = -4.6578x^2 + 7.4469x + 0.0598$	0.9998	赖氨酸 Lysine	$y = 5.4474x^2 + 0.4237x - 0.0095$	0.9997
脯氨酸 Proline	y = 15.223x - 0.0826	0.9966	酪氨酸 Tyrosine	$y = 1.9262x^2 + 1.6461x - 0.0059$	0.9995

表 6 氨基酸衍生物回归方程

y:样品与内标峰面积之比(%);x:氨基酸含量(mg/g)

由图 3 可知,不同浓度¹⁵NO,胁迫后,根、茎、叶中¹⁵N-氨基酸含量变化均呈现上升趋势,各处理组叶的¹⁵N-氨基酸含量最高。根器官¹⁵N-氨基酸含量的变化,T1、T2 组较 CK 组均呈上升趋势,T2 组相较 T1 组除亮氨 酸、谷氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸外均显著上升,上升幅度为121.6%—402.3%。茎的¹⁵N-氨基酸含量变化中, T1、T2 组相较 CK 组均呈上升趋势,T2 组较 T1 组除亮氨酸、异亮氨酸外均显著上升,上升幅度为 218.1%— 1469.9%。叶的¹⁵N-氨基酸含量变化中,T1 组和 T2 组相较 CK 组均呈显著上升,T2 组较 T1 组均呈显著上升, 上升幅度为107.3%-867.5%。



不同器官¹⁵N-氨基酸含量比较 图 3

Fig.3 Comparison of ¹⁵N- amino acid content in different organs

CK: 对照组 Control Check; T1: 处理组 1 Treatment group 1; T2: 处理组 2 Treatment group 2

http://www.ecologica.cn

8005

由表 7 可知,不同¹⁵NO₂胁迫后,根、茎、叶中¹⁵N-氨基酸分配率变化均呈现上升趋势,各处理组叶的¹⁵N-氨基酸分配率最高。根器官¹⁵N-氨基酸分配率变化中,T1 组和 T2 组相较 CK 组均呈现上升趋势,T2 组较 T1 组 在丙氨酸中呈极显著上升,在甘氨酸、亮氨酸、脯氨酸、赖氨酸中无显著性差异,各¹⁵N-氨基酸分配率上升幅度 为 7.0%—81.7%。茎的各氨基酸分配率变化中,T1 组和 T2 组相较 CK 组均呈现上升趋势,上升幅度为 2.9%—86.5%,T2 组相较 T1 组均无显著性差异。叶的¹⁵N-氨基酸分配率变化中,T1 组和 T2 组相较 CK 组均 呈现极显著上升趋势,T2 组相较 T1 组除在丙氨酸中呈现显著下降趋势,在其余氨基酸中无显著性差异。

类型	胁迫浓度/(μL/L)	¹⁵ N分配率/%(¹⁵ N allocation rate)			
Гуре	Stress concentration	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	
	0(CK)	0.0000Bc	0.0000Bb	0.0000Bc	
Ala	4(T1)	$1.5311{\pm}0.0558\mathrm{Ab}$	0.8173±0.0881Aa	97.6516±0.0323Aa	
	8(T2)	2.6431±0.4056Aa	1.1201±0.2198Aa	$96.2368 \pm 0.6253 \mathrm{Ab}$	
	0(CK)	0.0000Bb	0.0000Bb	0.0000Bb	
Gly	4(T1)	1.7212±0.3137ABa	0.9083±0.2380ABa	97.3706±0.5517Aa	
	8(T2)	3.1280±0.6342Aa	1.3347±0.2788Aa	95.5374±0.9130Aa	
	0(CK)	0.0000Ab	0.0000Aa	0.0000Bb	
Val	4(T1)	6.0507±4.7025Aa	2.1550±2.226Aa	91.7943±6.9251Aa	
	8(T2)	5.4907 ± 0.8442 Aab	2.6026±0.6860Aa	91.9067±1.5302Aa	
	0(CK)	0.0000Aa	0.0000Ab	0.0000Bb	
Leu	4(T1)	0.6906±0.7990Aa	0.2376±0.0530Aa	99.0718±0.8520Aa	
	8(T2)	0.3912±0.0847Aa	0.2444±0.0983Aa	99.3644±0.1830Aa	
	0(CK)	0.0000Ab	0.0000Ab	0.0000Bb	
Ile	4(T1)	1.1221±0.7221Aa	0.5408±0.2513Aab	98.3371±0.9734Aa	
	8(T2)	1.3296±0.0282Aab	1.0087±0.2697Aa	97.6617±0.2978Aa	
	0(CK)	0.0000Ab	0.0000Ab	0.0000Bb	
Pro	4(T1)	1.8268±0.8353Aa	1.4019±0.4156Aa	96.7713±1.2509Aa	
	8(T2)	1.9547±0.3184Aa	1.8706±0.4278Aa	96.1748±0.7461Aa	
	0(CK)	0.0000Ab	0.0000Ab	0.0000Bb	
Asp	4(T1)	1.7061±0.9819Aa	1.6510±0.8386Aa	96.6429±1.8205Aa	
	8(T2)	1.2224±0.0836Aab	$1.5210{\pm}0.3493\mathrm{Aab}$	97.2566±0.4329Aa	
	0(CK)	0.0000Bb	0.0000Bb	0.0000Bb	
Met	4(T1)	4.8384±0.2148Aa	3.7116±0.2736Aa	91.4500±0.4885Aa	
	8(T2)	3.6308±0.5835Aa	4.3008±1.0952Aa	92.0684±1.6788Aa	
	0(CK)	0.0000Bc	0.0000Aa	0.0000Bb	
Glu	4(T1)	1.9389±0.2525Aa	0.7669±0.7713Aa	97.2942±0.5188Aa	
	8(T2)	$0.8442{\pm}0.2994\mathrm{ABb}$	1.0542±0.2619Aa	98.1016±0.5613Aa	
	0(CK)	0.0000Bb	0.0000Bb	0.0000Bb	
Phe	4(T1)	2.1555±0.5425Aa	0.9627±0.2687ABa	96.8818±0.8112Aa	
	8(T2)	1.4276±0.4296ABa	0.9090±0.1888Aa	97.6634±0.6184Aa	
	0(CK)	0.0000Bb	0.0000Bb	0.0000Bb	
Lys	4(T1)	1.6143±0.2275Aa	1.1247±0.3196Aa	97.2609±0.5472Aa	
	8(T2)	2.5439±0.4997Aa	1.5417±0.2968Aa	95.9144±0.7965Aa	
	0(CK)	0.0000Ab	0.0000Bb	0.0000Bb	
Tyr	4(T1)	5.2960±0.4653Aa	2.6269±0.3000Aa	92.0771±0.7653Aa	
	8(T2)	4.3380±1.7605Aa	3.5712±0.7781Aa	92.0908±2.5386Aa	

表 7 不同器官¹⁵N-氨基酸分配率比较

Ala:丙氨酸 Alanine; Gly:甘氨酸 Glycine; Val:缬氨酸 Valine; Leu:亮氨酸 Leucine; Ile:异亮氨酸 Isoleucine; Pro:脯氨酸 Proline; Asp:天冬氨酸 Aspartic acid; Met:蛋氨酸 Methionine; Glu:谷氨酸 Glutamic acid; Phe:苯丙氨酸 Phenylalanine; Lys:赖氨酸 Lysine; Tyr:酪氨酸 Tyrosine

3 讨论

3.1 ¹⁵NO,胁迫下不同器官¹⁵N吸收分配动态规律

氮素是植物生长必需的大量元素,在植物的生长、发育、细胞分化及多条代谢途径中起着关键作用^[32]。 本研究中,随着¹⁵NO₂浓度升高,三角梅各器官内¹⁵N含量整体呈上升趋势,T2处理下叶片¹⁵N含量最高,与T1 组相比,T2组叶片的¹⁵N含量极显著上升了238.7%。T1组中各器官¹⁵N分配率表现为叶>根>茎,此研究结果 与前人^[33]对氮胁迫下白桦幼苗根、茎、叶中氮含量变化研究结果一致,造成这种差异的原因是植物在氮素充 足的情况下会分配给叶片更多的氮素,也说明当前浓度¹⁵NO₂胁迫下植物生长发育代谢最旺盛的部位是叶,其 次是根,最后才是茎。而T2组中各器官¹⁵N分配率表现为叶>茎>根,与T1组的相同点在于叶片对¹⁵N的分配 率始终居于首位,不同之处在于根和茎对¹⁵N的分配率存在差异,分析认为高浓度的¹⁵NO₂抑制植物根系的¹⁵N 分配,而促进叶和茎的¹⁵N分配。氮素一般集中于植物体生命活动最活跃的部分^[34-35],在三角梅各器官中,叶 是生长及代谢最旺盛的部位,因此,叶片的¹⁵N分配率最高。该研究与草地早熟禾随着水培氮素浓度的增加, 植株各器官全氮含量呈现上升趋势,且叶部积累的全氮含量最多的结果一致^[36]。库尔勒香梨各器官全氮含 量随着氮素供应量增加均呈上升趋势,在450kg/hm²高氮素水平时相对较大,说明充足的氮素有利于植物叶 片对氮的积累^[37]。综上所述,¹⁵NO₂浓度确实是影响植物¹⁵N含量的因素之一,¹⁵NO₂胁迫下三角梅不同器官可 以快速同化氮素,各器官的¹⁵N含量都有显著上升,对¹⁵NO₂胁迫表现出良好的胁迫适应性。

3.2 ¹⁵NO₂胁迫下不同器官对两种形态氮素的吸收和利用

叶片液泡是养分的储存库,¹⁵N-硝态氮可通过进入液泡暂时被储存起来^[38]。本试验中三角梅各器官中 ¹⁵N-硝态氮含量随着¹⁵NO₂浓度升高均呈上升趋势,T1、T2 组中各器官¹⁵N-硝态氮分配率均表现为叶>根>茎, T2 处理下三角梅叶片中¹⁵N-硝态氮含量较 T1 显著上升 1385.6%,差异极显著。付晓玲等研究发现,随着硝态 氮浓度的升高,小叶樟的茎和叶¹⁵N含量均缓慢上升,叶中¹⁵N含量最多^[39],与本试验结果一致。而当三角梅受 到¹⁵NO₂胁迫后,植株体内储存大量的¹⁵N-硝态氮,而这种氮素储藏形式对植物无害,但是必须通过转化成¹⁵N-铵态氮才能被植株进一步代谢利用^[40]。

本试验中,随着¹⁵NO₂浓度升高,各处理根、茎中¹⁵N-铵态氮含量整体呈上升趋势,叶中¹⁵N-铵态氮含量整体呈"上升—下降"趋势,T1组中各器官¹⁵N-铵态氮分配率表现为叶>根>茎,T2组中各器官¹⁵N-铵态氮分配率表现为根>叶>茎。茎是¹⁵N贮藏的"临时库",苗木主要通过茎将吸收的¹⁵N输送到叶等生长旺盛的部位^[41],因此¹⁵N-铵态氮在茎中含量较低。而T1组与T2组中的根和叶中的¹⁵N-铵态氮分配率高低不一致,推测认为与¹⁵NO₂胁迫浓度相关,高浓度¹⁵NO₂胁迫抑制叶中的¹⁵N-铵态氮分配率,低浓度¹⁵NO₂胁迫促进叶的¹⁵N-铵态氮分 配率,而根的表现正好相反,分析认为,植物体内的¹⁵N-铵态氮并不能在植物体内大量存储,一旦超过植物所能接受的量,便会导致叶片出现黄色斑点,黄化等氨中毒现象^[42],而高浓度¹⁵NO₂胁迫后,三角梅叶片出现部分黄色斑点等受害症状,原因可能是叶片中的¹⁵N-铵态氮分配受到抑制所致^[43]。

3.3 ¹⁵NO₂胁迫下不同器官¹⁵N-氨基酸变化规律

植物中的游离氨基酸同位素已被广泛应用于研究叶片的代谢通量、氮循环以及氮代谢^[41]等。本试验通 过不同¹⁵NO₂胁迫浓度研究三角梅各器官¹⁵N-氨基酸的合成和分配,系统地研究三角梅中氨基酸的转化路径 及代谢循环规律,为充分发挥三角梅消减氮污染物等生态效益提供一定的实践依据。试验中,随着¹⁵NO₂浓度 不断上升,T1处理下三角梅各器官¹⁵N-氨基酸含量呈上升趋势,分配率均表现为叶>根>茎;与T1组相比,T2 处理下各器官中¹⁵N-氨基酸含量则未呈现统一的变化趋势,各器官中部分¹⁵N-氨基酸含量呈下降趋势。可见, 低浓度¹⁵NO₂胁迫对三角梅各器官¹⁵N-氨基酸含量影响不显著,各器官代谢规律一致,而高浓度¹⁵NO₂胁迫各器 官¹⁵N-氨基酸合成量不一致,植物体在氨基酸的合成过程中,首先吸收氮素,合成氨基酸,再根据各器官需求 转化不同有机物质,植物中的游离氨基酸含量是植物受到环境胁迫的应激指标,缺氮会抑制植株体内氨基酸 合成,适宜的提高供氮量会提高植株叶片氨基酸含量,而过量供氮可能引起植株代谢紊乱^[45-46],分析认为, ¹⁵NO₂浓度是影响三角梅各器官¹⁵N-氨基酸含量分配的主要因素之一。¹⁵NO₂胁迫下三角梅各器官¹⁵N-氨基酸 含量在不断上升,推测认为这也是三角梅通过氨基酸的积累实现植物抵御逆境的一种生理响应。植株吸收的 ¹⁵N-氨基酸在各器官中分配差异较大,与各时期生长中心关系密切^[47]。本试验中,不同处理下三角梅根和茎 中¹⁵N-氨基酸含量上升幅度较小;叶片作为三角梅生长及代谢最旺盛的部位,各¹⁵N-氨基酸含量大幅度上升, 分配率达到 90%以上,远高于其他器官。作为含氮化合物的主要转运物,氨基酸含量的变化影响着植物对氮 素的运输、吸收和同化能力^[48],因此,对¹⁵N-氨基酸含量分配影响最直接的器官在于三角梅叶片。

4 结论

本文通过¹⁵N示踪法研究¹⁵NO₂胁迫下三角梅各器官中¹⁵N含量及相关¹⁵N-氨基酸含量变化,旨在探究¹⁵N O₂胁迫后不同器官中氮素含量的吸收分配动态及代谢规律。研究认为¹⁵NO₂胁迫后显著提高了三角梅各器官¹⁵N含量,叶片中¹⁵N含量远高于其他器官,高浓度(T2,8.0 µL/L)¹⁵NO₂处理下三角梅各器官¹⁵N、¹⁵N-硝态氮含量较低浓度(T1,4.0 µL/L)和CK(0 µL/L)均极显著上升,只有¹⁵N-铵态氮含量较4.0 µL/L 极显著下降了 54.0%;¹⁵N含量在三角梅各器官中分配差异显著,4.0 µL/L¹⁵NO₂处理下总体趋势为叶>根>茎,8.0 µL/L¹⁵NO₂处理下推测根的氮素分配受到抑制,总体趋势为叶>茎>根。T1 组与 T2 组中的根和叶中的¹⁵N-铵态氮分配率 高低不一致,高浓度(T2,8.0 µL/L)¹⁵NO₂胁迫抑制叶中的¹⁵N-铵态氮分配率,低浓度(T1,4.0 µL/L)¹⁵NO₂胁迫抑制叶中的¹⁵N-铵态氮分配率,而根的表现正好相反。

三角梅叶片¹⁵N-氨基酸含量同样远高于其他器官,在 8.0 μ L/L ¹⁵NO₂处理下相较于 4.0 μ L/L ¹⁵NO₂和 0 μ L/L ¹⁵NO₂均呈现显著上升,相较于 4.0 μ L/L ¹⁵NO₂的各¹⁵N-氨基酸含量上升幅度为 107.3%—867.5%;随着 ¹⁵NO₂浓度不断上升,4.0 μ L/L ¹⁵NO₂处理下各器官¹⁵N-氨基酸含量总体趋势为:叶>根>茎,8.0 μ L/L ¹⁵NO₂处理下各器官¹⁵N-氨基酸含量除天冬氨酸、蛋氨酸、谷氨酸含量总体趋势呈现叶>茎>根,其余各器官¹⁵N-氨基酸 总体趋势仍为叶>根>茎。

因此,¹⁵NO₂胁迫下,可以提高一定程度的三角梅各器官对¹⁵N的吸收量和各器官¹⁵N-氨基酸含量,但是不同浓度的¹⁵NO₂胁迫对二者的影响并不一致;低浓度的¹⁵NO₂对植物的¹⁵N的吸收量和各器官¹⁵N-氨基酸含量均呈现为上升趋势,叶片为¹⁵N和¹⁵N-氨基酸积累的主要器官;高浓度¹⁵NO₂的对植物的¹⁵N的吸收量和各器官¹⁵N-氨基酸含量的影响呈现为不同趋势,高浓度的¹⁵NO₂抑制植物根系的¹⁵N分配,促进叶和茎的¹⁵N分配,叶片为¹⁵N积累的主要器官,高浓度¹⁵NO₂没有对植物¹⁵N-氨基酸含量的变化产生统一影响,但是所有¹⁵N-氨基酸含量 相较于低浓度¹⁵NO₂时均呈现下降趋势。该研究结果为氮氧化物污染在植物体内的迁移转化规律提供一定的理论依据。该研究方法对定向选育适合抗大气污染物的树种具有一定的指导意义,可为该树种在城市绿化中的应用提供一定的理论基础。

但植物对¹⁵NO₂耐受机理内容非常复杂,今后研究方向还可围绕选用不同苗龄的苗木、在逆境胁迫下更 长时间的生长情况和生理变化、从植物的叶片表面和断面的生长情况以及对植物根、茎、叶超微结构进行深入 地观察,结合植物的各项生理指标,并从细胞器水平上探索三角梅各器官内氮素和氨基酸迁移转化机制,进而 评价三角梅对 NO₂的抗性能力。

参考文献(References):

- [1] Xu Y, Xiao H Y, Wu D S. Traffic-related dustfall and NO_x, but not NH₃, seriously affect nitrogen isotopic compositions in soil and plant tissues near the roadside. Environmental Pollution, 2019, 249; 655-665.
- [2] Guilbert A, De Cremer K, Heene B, Demoury C, Aerts R, Declerck P, Brasseur O, Van Nieuwenhuyse A. Personal exposure to traffic-related air pollutants and relationships with respiratory symptoms and oxidative stress: a pilot cross-sectional study among urban green space workers. Science of the Total Environment, 2019, 649: 620-628.

- [3] Delaria E R, Cohen R C. A model-based analysis of foliar NO_x deposition. Atmospheric Chemistry and Physics, 2020, 20(4): 2123-2141.
- [4] 中华人民共和国生态环境部. 中国移动源环境管理年报(2020). http://www.mee.gov. cn/hjzl/sthjzk/ydyhjgl/202008/ P020200811521365906550.pdf. 2020-08-10/2021-03-03.
- [5] Grundström M, Hak C, Chen D, Hallquist M, Pleijel H. Variation and co-variation of PM₁₀, particle number concentration, NO_x and NO₂ in the urban air-Relationships with wind speed, vertical temperature gradient and weather type. Atmospheric Environment, 2015, 120: 317-327.
- [6] Huang G W, Brown P E. Population-weighted exposure to air pollution and COVID-19 incidence in Germany. Spatial Statistics, 2021, 41: 100480.
- [7] Frontera A, Cianfanelli L, Vlachos K, Landoni G, Cremona G. Severe air pollution links to higher mortality in COVID-19 patients: the double-hit hypothesis. The Journal of Infection, 2020, 81(2): 255-259.
- [8] 刘滨谊,彭旭路.城市街道小气候舒适性研究进展与启示.中国园林,2019,35(10);57-62.
- [9] Liu C, Li L L, Li G Z, Hao L. Ethylene insensitive mutation improves Arabidopsis plant tolerance to NO₂ exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 189: 110043.
- [10] Markou G, Muylaert K. Effect of light intensity on the degree of ammonia toxicity on PSII activity of Arthrospira platensis and Chlorella vulgaris. Bioresource Technology, 2016, 216: 453-461.
- [11] Yue F G, Xie Z Q, Zhang P F, Song S J, He P Z, Liu C, Wang L Q, Yu X W, Kang H. The role of sulfate and its corresponding S(IV)+NO₂ formation pathway during the evolution of haze in Beijing. Science of the Total Environment, 2019, 687: 741-751.
- [12] Kapuganti J G. Nitrogen Metabolism in Plants: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. Springer science business media, LLC, part of springer nature, New York. 2020: 4-5.
- [13] Chaparro-Suarez I G, Meixner F X, Kesselmeier J. Nitrogen dioxide (NO₂) uptake by vegetation controlled by atmospheric concentrations and plant stomatal aperture. Atmospheric Environment, 2011, 45(32): 5742-5750.
- [14] 王瑞. 氮素对油茶苗木生长的影响研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2021.
- [15] 王鑫,余新晓,贾国栋,邱云霄,史佳美,孜尔蝶.不同土壤水分条件下侧柏幼苗的生理活动及氮素分配策略.水土保持学报,2020,34 (3):311-317.
- [16] Morikawa H, Higaki A, Nohno M, Takahashi M, Kamada M, Nakata M, Toyohara G, Okamura Y, Matsui K, Kitani S, Fujita K, Irifune K, Goshima N. More than a 600-fold variation in nitrogen dioxide assimilation among 217 plant taxa. Plant, Cell & Environment, 1998, 21(2): 180-190.
- [17] 圣倩倩, 祝遵凌. 南京市 7 种适生彩叶植物抗 NO2能力及生态功能研究. 中南林业科技大学学报, 2018, 38(8): 81-88.
- Sheng Q Q, Zhu Z L. Photosynthetic capacity, stomatal behavior and chloroplast ultrastructure in leaves of the endangered plant *Carpinus putoensis* W.C.Cheng during gaseous NO₂ exposure and after recovery. Forests, 2018, 9(9): 561.
- [19] 宋敏,圣倩倩,祝遵崚.一种监测熏气装置气体浓度的装置,中国,CN211825964U. 2020-10-30.
- [20] Sheng Q Q, Zhu Z L. Physiological Response of European Hornbeam Leaves to Nitrogen Dioxide Stress and Self-recovery. Journal of the American Society for Horticultural Science. American Society for Horticultural Science, 2019, 144(1): 23-30.
- [21] 圣倩倩,徐晶圆,宋敏,祝遵凌. NO,胁迫下 38 种园林植物的形态伤害指数分析. 中南林业科技大学学报, 2020, 40(12): 151-158.
- [22] 圣倩倩,戴安琪,宋敏,唐睿,祝遵凌. NO₂胁迫下两种鹅耳枥的光合生理特性变化. 南京林业大学学报:自然科学版, 2021, 45(2): 10-16.
- [23] Chen Z M, Chen Y X, Du G J, Wu X L, Li F. Effects of 60-day NO₂ fumigation on growth, oxidative stress and antioxidative response in *Cinnamomum camphora* seedlings. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 2010, 11(3): 190-199.
- [24] Liu X F, Hou F, Li G K, Sang N. Effects of nitrogen dioxide and its acid mist on reactive oxygen species production and antioxidant enzyme activity in *Arabidopsis* plants. Journal of Environmental Sciences, 2015, 34: 93-99.
- [25] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [26] 王春辉, 祝鹏飞, 束良佐, 朱继荣, 于红梅, 詹雨珊, 袁梅. 分根区交替灌溉和氮形态影响土壤硝态氮的迁移利用. 农业工程学报, 2014, 30(11): 92-101.
- [27] 顾曼如.¹⁵N在苹果氮素营养研究中的应用.中国果树, 1990(2): 46-48.
- [28] Weigand M A, Foriel J, Barnett B, Oleynik S, Sigman D M. Updates to instrumentation and protocols for isotopic analysis of nitrate by the denitrifier method. Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM, 2016, 30(12): 1365-1383.
- [29] Zhang S S, Fang Y T, Xi D. Adaptation of micro diffusion method for the analysis of 15N natural abundance of ammonium in samples with small volume. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2015, 29(14): 1297-1306.
- [30] 孟靖, 张姗姗, 喻文娟, 刘玉敏, 高羽, 张莉. 气相色谱-燃烧-同位素比值质谱法测定枸杞氨基酸δ¹⁵N_{Air}值. 分析试验室, 2019, 38(9): 1080-1084.

http://www.ecologica.cn

- [31] Yarnes C T, Herszage J. The relative influence of derivatization and normalization procedures on the compound-specific stable isotope analysis of nitrogen in amino acids. Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM, 2017, 31(8): 693-704.
- [32] 陶爽, 华晓雨, 王英男, 郭娜, 阎秀峰, 蔺吉祥. 不同氮素形态对植物生长与生理影响的研究进展. 贵州农业科学, 2017, 45(12):64-68.
- [33] 李海霞,张妍妍,白卉,邢亚娟.供氮水平对白桦幼苗生物量、碳氮含量与储量的影响. 江苏农业科学, 2017, 45(22): 156-159.
- [34] 王瑞. 氮素对油茶苗木生长的影响研究[D]. 中南林业科技大学, 2021.
- [35] 王鑫, 余新晓, 贾国栋, 邱云霄, 史佳美, 孜尔蝶. 不同土壤水分条件下侧柏幼苗的生理活动及氮素分配策略. 水土保持学报, 2020, 34 (03): 311-317.
- [36] 陈阳,孙华山,金一锋,金忠民,陈雅君.氮素调控对草地早熟禾解剖结构及组织碳氮含量的影响.草原与草坪,2018,38(4):35-40.
- [37] 何雪菲,马泽跃,玉素甫江·玉素音,黄战,张曦瑜,柴仲平.碳、氮含量及比值与库尔勒香梨产量的相关性.果树学报,2021,38(5):702-713.
- [38] 彭正萍. 植物氮素吸收、运转和分配调控机制研究. 河北农业大学学报, 2019, 42(2): 1-5.
- [39] 付晓玲,王继丰,刘赢男,王建波,倪红伟.不同氮形态及浓度对湿地小叶章生长和氮素吸收的影响.国土与自然资源研究,2022(2): 75-78.
- [40] 王永新,夏方山,董秋丽,董宽虎,赵祥,高文俊. 盐碱草地不同改良措施对沙打旺氮代谢的影响. 草地学报, 2012, 20(2): 324-330.
- [41] 马晓东, 钟小莉, 桑钰. 干旱胁迫下胡杨实生幼苗氮素吸收分配与利用. 生态学报, 2018, 38(20): 7508-7519.
- [42] 吴淑华,王佳新,张世柯,王俊,曾阳金,李远球,刘楠. 模拟氮沉降对常绿阔叶林 6 种植物氮同化的影响. 生态环境学报, 2019, 28 (2): 262-269.
- [43] Kant S. Understanding nitrate uptake, signaling and remobilisation for improving plant nitrogen use efficiency. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2018, 74: 89-96.
- [44] Gauthier P P G, Lamothe M, Mahé A, Molero G, Nogués S, Hodges M, Tcherkez G. Metabolic origin ofδ¹⁵N values in nitrogenous compounds from Brassica napusL. leaves. Plant, Cell & Environment, 2013, 36(1): 128-137.
- [45] Liu Y, von Wirén N. Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants. Journal of Experimental Botany, 2017, 68 (10): 2581-2592.
- [46] 陈莹,王茜,陈锡,王小利.低氮胁迫对高羊茅苗期生理特性的影响.中国草地学报,2022,44(2):9-15.
- [47] Qiao C L, Xu B, Han Y T, Wang J, Wang X, Liu L L, Liu W X, Wan S Q, Tan H, Liu Y Z, Zhao X M. Synthetic nitrogen fertilizers alter the soil chemistry, production and quality of tea. A meta-analysis. Agronomy for Sustainable Development, 2018, 38(1): 1-10.
- [48] Liu M Y, Burgos A, Ma L F, Zhang Q F, Tang D D, Ruan J Y. Lipidomics analysis unravels the effect of nitrogen fertilization on lipid metabolism in tea plant (*Camellia sinensis* L.). BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 165.